Istituto di Patologia Generale della R. Università di Napoli

Studi sull'intossicazione proteica. II. Tossicità dell'albumina di uovo e suoi derivati

DI

F. PENTIMALLI

Estratto dalla "Gazzetta Internazionale di Medicina, Chirurgia Igiene, Interessi Professionali", Organo Quindicinale. Napoli, Via Broggia 13 - 1921

NAPOLI
Tip. M. Ruggiano & C.
Vico Fico al Purgatorio, 1
1921

Istituto di Patologia Generale della R. Università di Napoli

Studi sull'intossicazione proteica. II. Tossicità dell'albumina di uovo e suoi derivati

DI

F. PENTIMALLI

Estratto dalla "Gazzetta Internazionale di Medicina, Chirurgia Igiene, Interessi Professionali ,, Organo Quindicinale. Napoli, Via Broggia 13 - 1921

NAPOLI
Tip. M. Ruggiano & C.
Vico Fico al Purgatorio, 1
1921

L' introduzione parenterale di albumina di uovo nell'organismo, fu fatta in numerosi esperimenti e per scopi diversi. Limitandomi a riferire soltanto le ricerche che più strettamente si connettono con le mie, dirò che Arthus ha dimostrato che l'iniezione, sottocutanea o intravenosa, di ovoalbumina al terzo (1 parte di bianco d'uovo e 2 parti di soluzione fisiologica), praticata nei conigli normali, non determina alcun fenomeno; invece l' iniezione, sottocutanea o intravenosa, della stessa ovoalbumina, praticata in conigli che precedentemente aveano ricevuto una serie di iniezioni sottocutanee della sostanza, provoca fenomeni, rispettivamente locali o generali, analoghi ai fenomeni locali o generali della siero-anafilassi. I primi consistono nel classico fenomeno che prese appunto il nome da lui, i secondi, specialmente in un abbassamento della pressione sanguigna. Egli trattava gli animali con 5 o 6 iniezioni sottocutanee, ciascuna da 5 a 10 $cm.^3$, di ovoalbumina al terzo, fatte ad intervalli di una settimana l'una dall'altra. Alcuni conigli anafilattizzati in tal maniera, e che avevano presentato abbassamento di pressione più o meno accentuato, furono conservati in vita fino a 6 settimane dopo l' iniezione: dopo questo tempo, il loro stato di salute era buono, e la numerazione delle emazie ha dato cifre normali, mentre lo stesso A. ha notato che gli animali in stato siero anafilattico andavano incontro ad anemia e cachessia. La tossicità primaria dell'albumina di uovo, per il coniglio, è certamente poca, se Arthus, con 4 $cm.^3$ di una soluzione al terzo non ha osservato alcuna modificazione della pressione sanguigna, e se io stesso in altre

ricerche (1), con quantità anche maggiori, neanche ho potuto notare alcun effetto sulla pressione o sulla respirazione. Per le stesse quantità, in conigli normali, non precedentemente trattati, non si ha neppure costantemente un disturbo dei centri nervosi termogenetici e termoregolatori (2).

Quanto altri animali siano più sensibili del coniglio all'albumina di uovo, risulta da ricerche di Besredka e Bronfenbrenner, i quali riuscirono ad anafilattizzare le cavie con $^{1}/_{100}$ di cm.^{3} di bianco d'uovo; l'ipersensibilità è tale, che questi animali soccombono in alcuni istanti a dosi minime nella vena giugulare ($^{1}/_{100}$ a $^{1}/_{500}$ di cm.^{3}), ma non apparisce in seguito alla iniezione di una dose mille volte maggiore, fatta nel peritoneo o sottocute. Il bianco di uovo riscaldato (a 100°) sensibilizza egualmente, per quanto in modo non pronunziato; ma, fatto notevole, la cavia sensibilizzata con albumina di uovo normale, rimane perfettamente indifferente all' iniezione intravenosa di albumina riscaldata. Questi Autori riuscirono anche a produrre, nelle cavie, uno stato antianafilattico, col metodo delle vaccinazioni a piccole dosi o a dosi subentranti; lo stato antianafilattico, tuttavia, è di corta durata, e non va al di là di tre settimane. Nei conigli, invece, Arthus non è riuscito a realizzare uno stato antianafilattico per trattamento con siero di cavallo.

Per quel che riguarda i derivati dall'albumina di uovo, Wells ha ottenuto risultati negativi nelle cavie, con i prodotti di scissione che si originano nella digestione triptica o peptica di essa, come albumose, peptoni, polipeptidi, aminoacidi cristallizzabili. Ciò corrisponde a quanto è noto per l'opera di moltissimi altri ricercatori, vale a dire che il potere anafilattogeno della molecola di albumina intatta, è distrutto anche da una debole disintegrazione. Tuttavia, occorre ricordare che, secondo le ricerche di Zunz, tra l'albumina integra e i suoi prodotti di scissione con caratteri di albumose, sono possibili aggruppamenti che

---

(1) *Pentimalli*: Studi sull'intossicazione proteica. V. Comportamento della pressione del sangue e della respirazione. — Folia medica. 1921.

(2) *Pentimalli*: Studi sull' intossicazione proteica. VI Comportamento della temperatura del corpo. Archiv. di Scienze biolog. 1921.

possiedono ancora il carattere di antigeno, e che possono sensibilizzare così le cavie, come i conigli. Quanto poi a tossicità primaria, secondo Schittenhelm, Weichardt e Grisshammer, non tutti i prodotti di scissione agiscono egualmente; alcuni sono fortemente tossici, altri no, e la tossicità può dipendere non solo da disintegrazioni, ma anche da nuovi aggruppamenti. Infine ricorderò che, secondo Wells, esistono nell'uovo di pollo 5 sostanze anafilattogene biologicamente diverse, che in parte si possono anche isolare chimicamente.

Materiale e metodo.

Per le presenti ricerche, furono usati esclusivamente conigli, nei quali le sostanze proteiche adoperate vennero sempre iniettate per via intravenosa. Queste sostanze proteiche sono:

1. *Preparato A,* cioè albumina di uovo integra, accuratamente separata dal tuorlo. Poichè questa sostanza è assai vischiosa, ciò che costituisce un ostacolo alle iniezioni fatte con ago sottile, fu quasi sempre necessario agitarla a lungo, con bacchetta di vetro; si forma così una fitta schiuma, la quale, dopo qualche tempo, si scioglie in un liquido che può facilmente utilizzarsi. Con l'albumina di uovo furono preparati i seguenti derivati:

2. *Preparato B.* — In 500 cm.^{3} di soda al 3 $^o/_o$, si mescola l'albumina che si ricava da 5 uova, dopo separazione del tuorlo. Si agita con bacchetta di vetro, onde ottenere una buona distribuzione dell'albumina, e si riscalda a bagno maria fino a dissoluzione dell'albumina stessa, ad eccezione di piccoli fiocchetti; si filtra a caldo; si precipita con soluzione diluita di acido cloridrico; il precipitato è rapidamente lavato, ed essiccato nel vuoto, sopra acido solforico, in termostato a 37^o — Si ottiene così, per scissione idrolitica con alcali dell'albumina di uovo, una sostanza assai lentamente solubile in acqua distillata, o in semplice soluzione fisiologica, più facilmente e completamente, invece, in soluzione fisiologica con l'aggiunta di carbonato sodico, e in tal modo veniva iniettata.

3. *Preparato C.* — L'albumina di uovo veniva scissa come nella preparazione precedente; il filtrato che si ot-

teneva dopo la separazione del precipitato con acido cloridrico, era posto nuovamente a bagno maria. Durante la concentrazione del liquido, veniva a depositarsi sulla parete della capsula di porcellana una sostanza gialliccia, che era essiccata a parte, e che presentava completa solubilità in liquido fisiologico.

4. *Preparato D.* — L' albumina di uovo veniva scissa come nelle precedenti preparazioni; il filtrato, dopo precipitazione con l'acido, era concentrato a bagno maria, fino a consistenza sciropposa. Il liquido concentrato era precipitato in un eccesso di alcool etilico a 96.° — Il precipitato era separato, e dopo evaporazione all'aria dell'alcool, sciolto in soluzione fisiologica ed iniettato. Questo preparato, come i precedenti, dava evidente la reazione del biureto.

5. *Tuorlo d'uovo* — Dopo separazione dal bianco, veniva diluito con altrettanta soluzione fisiologica, per rendere possibile l'iniezione con ago sottile. La quantità riportata nei protocolli che seguono deve intendersi, però, come quantità di tuorlo d' uovo senza alcuna diluizione.

ESPERIMENTI

PREPARATO A

Coniglio N. 1 (di prot. △) peso gr. 1700. — Riceve una iniezione endovenosa di cm³ 8 di preparato A, cioè di albumina di uovo integra, che l'animale tollera senza presentare alcun fenomeno tossico. All' indomani viene ucciso, con lo scopo di studiare le modificazioni istologiche degli organi dopo 24 ore.

Coniglio N. 2 (di prot. 29) peso gr. 2200. — Questo animale vien trattato endovenosamente, come segue:

16	Agosto	(1919)	cm^3 5	di preparato	A
18	»	»	cm^3 5	»	»
19	»	»	cm^3 3	»	»
20	»	»	cm^3 5	»	»
21	»	»	cm^3 5	»	»
22	»	»	cm^3 5	»	»
23	»	»	cm^3 5	»	»

muore immediatamente dopo l'ultima iniezione con forti convulsioni generali: alla sezione, la cavità peritoneale si trova piena di sangue.

Coniglio N. 3 (di prot. X_3) peso gr. 2000. — Nei giorni 21, 22, 23 Maggio (1920) riceve 5 cm³ di preparato A. — Il 24 Maggio soltanto 2 cm³. Il 25, 26, 27, 28 Maggio la sostanza è inoculata col metodo delle iniezioni subentranti, vale a dire l'animale riceve ogni volta, prima 2 cm³ di albumina, e dopo $^1/_4$ d'ora, altri 3 cm³ del preparato. — Muore dopo 30 ore dall'ultima iniezione.

Coniglio N. 4 (di prot. 56) peso gr. 1900. — Riceve cm³ 6 di albumina A nei giorni 25 e 26 Marzo (1920) e cm³ 3 della stessa sostanza nei giorni 30 Marzo, 1 e 5 Aprile: muore, per anafilassi, subito dopo l'ultima iniezione.

Coniglio N 5 (di prot. 6) peso gr. 1750. — Questo animale viene inoculato endovenosamente con 10 cm³ di preparato A nei giorni 2, 3, 4, 5, 6, 7 luglio (1919); nessun fenomeno tossico si osserva dopo ciascuna di queste iniezioni. Il 14 luglio si iniettano cm³ 5 dello stesso preparato: morte dopo 1 minuto, con sintomi classici di anafilassi.

Coniglio N. 6 (di prot. X_1) peso gr. 1900. — L'animale subisce un trattamento perfettamente identico a quello del coniglio N. 3. Dopo l'ultima iniezione del 28 Maggio, non riceve altre iniezioni: muore il 7 Giugno, vale a dire dopo 9 giorni.

Coniglio N. 7 (di prot. 30) peso gr. 1850. — L'animale è trattato come segue:

(1919) Agosto: 16, 18, 19, 20, 21, 22, 23: riceve ogni volta cm³ 5 di preparato A.

Agosto: 25, 27, 29, 30: riceve cm³ 2 $^1/_2$

Settembre: 1, 3: riceve cm³ 4

muore dopo qualche minuto dall'ultima iniezione, con forti convulsioni.

Coniglio N. 8 (di prot. 57) peso gr. 1780. — Nei giorni 25 e 26 Marzo (1920) riceve cm³ 6 di preparato A; nei giorni 30 e 1 Aprile, cm³ 3; nei giorni 5, 7, 9, 12 Aprile, cm³ 2. Morte immediata per anafilassi.

Coniglio N. 9 (di prot. X_7) peso gr. 2050. — Nei giorni 5 e 6 giugno (1920) riceve cm³ 5 di albumina A; nei giorni

7,8,9 giugno cm^3 rispettivamente 4,3, 2 della stessa sostanza inoculata col metodo delle iniezioni subentranti. Poi l'animale è lasciato in riposo per 5 mesi; all' 8 novembre si riprende il trattamento con l' inoculazione di 4 cm^3. Una dose eguale si inocula il 9 e il 15 Novembre. Muore, con sintomi classici di anafilassi, immediatamente dopo l' ultima iniezione.

Preparato B

Coniglio N. 10 (di prot. η) peso gr. 2150. — Iniezione endovenosa di gr. 0,50, che produce notevole dispnea; per altri scopi, l'animale si uccide dopo 24 ore

Coniglio N. 11 (di prot. 66) peso gr. 2010. — L'animale è inoculato come segue:

(1919) Maggio 19: gr. 0,04 di preparato B
» 28: gr. 0,08 » »
Giugno 13, 18: gr. 0,20 » »
» 29: gr. 0,40 » »
Luglio 1, 4, 6, 8, 11, 13: gr. 1 di preparato B
» 17, 18, 19, 20, 21: gr. 1,50 » »
» 20: gr. 2 » »

muore dopo circa 15 minuti dall' ultima iniezione con forti convulsioni generali; alla sezione la cavità peritoneale si trova ripiena di sangue; nei polmoni, estese emorragie.

Coniglio N. 12 (di prot. 77) peso gr. 2300. Questo animale ha subito un trattamento identico al precedente; anche in esso, l'ultima iniezione, di gr. 2, causa la morte dopo qualche minuto. Alla sezione, si osserva una discreta quantità di liquido nel cavo peritoneale, e emorragie puntiformi disseminate nei polmoni.

Coniglio N. 13 (di prot. 55) peso gr. 2500. Il trattamento è iniziato, come nei due conigli precedenti, il 19 maggio 1919, e continuato, negli stessi giorni e con la stessa dose ricevuta dai conigli 11 e 12 fino al 21 luglio. In seguito, l'animale riceve iniezione endovenosa, sempre di 1 gr. di sostanza, nei seguenti giorni:

Luglio: 25, 26, 27, 28.

Agosto: 11, 12, 13, 14, 16, 18, 19, 20, 26, 27, 28, 29

l'animale muore dopo 6 ore dall'ultima iniezione.

PREPARATO C

Coniglio N. 14 (di prot. Z) peso gr. 2000. — Riceve una iniezione endovenosa di gr. 0,50; all'indomani si trova morto. Alla sezione. si trovano emorragie polmonari estese, e nefrite acuta.

Coniglio N. 15 (di prot. 5) peso gr. 1300. — Il 6 luglio (1919) riceve una iniezione endovenosa di gr. 0,80, la quale provoca l'insorgenza di violenti movimenti convulsivi, i quali, per altro, durano appena pochi minuti. Nei giorni 7 e 8 luglio, l'iniezione di gr. 0,40 di preparato C non produce alcun fenomeno. Il 10 luglio si aumenta la quantità (gr. 0,60) e si provocano nuovamente convulsioni di breve durata subito dopo l'iniezione. Il 12 e il 14 luglio si iniettono gr. 0,40; il 17, 18 e 22 luglio gr. 0,80; dopo quest'ultima iniezione l'animale rimane assai abbattuto, ed il giorno dopo si uccide, in condizioni di estrema debolezza. La sezione ha fatto rilevare ascite di modico grado, nefrite, e infiltrazione edematosa di tutti i muscoli del corpo.

Coniglio N. 16 (di prot. 52) peso gr. 1600. — Questo animale non fu trattato intensivamente, come il precedente; le iniezioni furono praticate, come segue:

(1920) febbraio:	9, 16, 23	con	grammi	0,50
marzo:	2, 10, 25	»	»	0,60
aprile:	7, 9,	»	»	0,60

dipoi, si uccide per altri scopi.

PREPARATO D

Coniglio N. 17 (di prot. 3) peso gr. 1750. — Nei giorni 3 e 4 luglio riceve iniezione endovenosa di gr. 0,80 del preparato, che l'animale tollera apparentemente bene. Il 5 luglio l'iniezione di gr. 1,20 della stessa sostanza, produce nell' animale grande agitazione; l' animale emette forti grida di dolore. Il 6 luglio, l'iniezione della stessa quantità causa la morte con forti convulsioni.

Coniglio N. 18 (di prot. 53) peso gr. 1800. E' iniettato con gr. 0,60 di preparato D, nei giorni 9, 16, 23 febbraio (1920) e 2, 10 marzo. L'animale muore dopo qualche minuto da quest' ultima iniezione.

Tuorlo d' uovo

Coniglio N. 19 (di prot. β) peso gr. 2200. — E' iniettato con 4. c. c. di tuorlo d' uovo, nella vena giugulare; si uccide il giorno seguente, per altri scopi.

Coniglio N. 20 (di prot. 33) peso gr. 2550. — Il 12 dicembre (1920) è iniettato endovenosamente con 4 c. c.; il 13 e 14 dicembre con 3 $^1/_2$; il 15 dicem. con 2 $^1/_2$; il 16 dic. con 2; il 17 dic. con 1 $^1/_2$ cm.^{3}. Morte, dopo alcuni minuti dall'ultima iniezione, con forti convulsioni.

Coniglio N. 21 (di prot. 1 α) peso gr. 1980. — Nei giorni 1, 2 e 3 dicembre (1920) riceve rispettivamente 4, 3 $^1/_2$, 3 cm.^{3} di tuorlo d'uovo. Dal 4 dicembre il trattamento procede col metodo delle iniezioni subentranti, come segue: 4, 5, 6, 7, 8 dicembre, iniezione di 1 $^1/_2$ cm.^{3}, e dopo mezz'ora, iniezione di 2 c.c. Nel giorno 8 dic. l' animale ha avuto discreti fenomeni di anafilassi dopo la prima iniezione; la 2.^{a} iniezione, in quantità maggiore della prima, fu però sopportata bene. Il 10 dic. si inietta endovenosamente 1 cm.^{3}: morte immediata, con fenomeni gravi di anafilassi.

Coniglio N. 22 (di prot. 1) peso gr. 2000. — E' sottoposto al medesimo trattamento del coniglio precedente, negli stessi giorni; solo resiste all'iniezione di 1 + 2 cm.^{3} del 10 dicembre, e muore l' 11 dic. subito dopo una iniezione endovenosa di 1 cm.^{3}, con sintomi di anafilassi.

Coniglio N. 23 (di prot. 2) peso gr. 2050. — Riceve un trattamento analogo al coniglio N. 22, negli stessi giorni e con la stessa dose; muore egualmente l'11 dicembre, al 10. giorno di trattamento, con i medesimi fenomeni di anafilassi.

Coniglio N. 24 (di prot. 4) peso gr. 1900. — E' un animale che ha dimostrato la stessa resistenza dei due precedenti al medesimo trattamento. Il giorno 8 dicembre ha avuto discreti fenomeni di anafilassi dopo la prima iniezione di 1 c.c. di tuorlo d'uovo, ma la successiva, di 2 c.c., fu sopportata bene. Nessun sintomo ha presentato dopo le iniezioni del giorno 10 dicembre; muore, invece, l' 11 dicembre, in piena crisi anafilattica, dopo l' iniezione di 1 c. c.

Coniglio N. 25 (di prot. X 6) peso gr. 1700.—Nei giorni 21, 22, 23 maggio (1920) riceve una iniezione endovenosa di 4 cm.³. Dipoi, il trattamento continua col metodo delle iniezioni subentranti, come segue:

24 Maggio: 2 cm.³ + 2 cm³
25 » 2 » + 2 »
26 » 2 » + 2 »
27 » 2 ½ » + 2 »
28 » 2 ½ » + 2 »
31 » 1 » + 2 »
1 Giugno: 1 » + 2 »

negli ultimi due giorni di trattamento, l'animale presenta discreti fenomeni anafilattici, sia dopo la prima iniezione, sia dopo la seconda, fatta con un intervallo di 15 20 minuti: muore, per shock, subito dopo la 2.ª iniezione del 1. Giugno.

Coniglio N. 26 (di prot. X 5) peso gr. 1900.—E' sottoposto, dal 21 Maggio al 1. Giugno, al medesimo trattamento dell'animale precedente; non presenta, però fenomeni anafilattici dopo le iniezioni del 31 maggio e del 1. giugno, e perciò il trattamento continua, come segue:

2 Giugno: 1 cm.³ + 2 cm.³ + 2 cm.³
4 » 1 » + 2 »
5 » 1 » + 2 »

dopo la 2. iniezione del 4 giugno si osservano notevoli fenomeni di anafilassi, dai quali l'animale presto si rimette; la prima iniezione, del 5 giugno, è tollerata bene, senza sintomi evidenti, ma la seconda causa gravissime convulsioni che portano a morte l'animale dopo circa 15 minuti.

Coniglio N. 27 (di prot. 58) peso gr. 2000.—Nei giorni 26 e 30 Marzo (1920) riceve 4 cm.³ di tuorlo d'uovo; la stessa quantità riceve il 1. aprile; il giorno 5 aprile, una iniezione di 2 cm.³ produce morte immediata per anafilassi.

Coniglio N. 28 (di prot. 44) peso gr. 1650.—E' un animale sottoposto, dal 12 al 17 dicembre (1920), al medesimo trattamento subìto dal coniglio N. 20 (di prot. 33); essendosi mostrato più resistente, è iniettato anche nei giorni

18, 19 e 23 dicembre, rispettivamente con 1 $^1/_2$, 1 $^1/_2$ 1 cm.^{3} di sostanza, e nei giorni 7, 11, 15 gennaio (1921) ogni volta con 1 $^1/_2$ cm.^{3}. Muore subito dopo l'ultima iniezione con forte crisi anafilattica.

Coniglio N. 29 (di prot. 59) peso gr. 1800. — Riceve il seguente trattamento: 30 marzo (1920): 3 cm.^{3}, 1. aprile: 5 cm.^{3}, 5 aprile: 1 cm.^{3}, 7 aprile: 1 $^1/_2$ cm.^{3}, 9 aprile: 1 cm.^{3}, 12 aprile: 1 cm.^{3}, 14 aprile: 1 cm^3, 16 aprile: 1 $^1/_2$ cm.^{3}, 19 aprile: 1 $^1/_2$ cm.^{3}, 21 aprile: 1 $^1/_2$ cm.^{3}, 22 aprile: 1 cm.^{3}. Dipoi, il trattamento continua col metodo delle iniezioni subentranti, come segue:

23 aprile:	$^1/_2$ cm.^{3}	+ 1 cm.^{3}	+ 2 cm.^{3}	
24 »	» »	+ 1 »	+ 2 »	
27 »	» »	+ 1 »	+ 2 »	+ 2 cm.^{3}
29 »	» »	+ 2 »	+ 2 »	
1 maggio:	1 »	+ 2 »	+ 2 »	
2 »	1 »	+ 2 »	+ 2 »	
3 »	1 »	+ 2 »	+ 2 »	
5 »	1 »	+ 2 »	+ 3 »	
6 »	1 »	+ 2 »	+ 3 »	
7 »	1 »	+ 2 »	+ 3 »	

giammai l'animale, dopo le iniezioni, ha presentato fenomeni anafilattici: dal 4 maggio in poi, si mostra, però, assai abbattuto, e cammina trascinando l'arto posteriore sinistro. Muore l'11 maggio, dopo 4 giorni dall'ultima iniezione.

Coniglio N. 30 (di prot. 1 β) peso gr. 1900. — Dal 1. all'11 dicembre (1920) è giornalmente inoculato con le seguenti dosi: 4, 3 $^1/_2$, 3, 1 $^1/_2$ + 2, 1 $^1/_2$ + 2, 1 $^1/_2$ + 2, 1 $^1/_2$ + 2, 1 + 2, 1 + 1. Il giorno 12 dicembre, l'iniezione di 1 cm.^{3} produce una forte crisi anafilattica, dalla quale l'animale si rimette con la respirazione artificiale. Si lascia in riposo sino al 7 gennaio (921), nel qual giorno riceve 1 $^1/_2$ cm.^{3}, senza presentare alcun sintomo dopo l'iniezione. Eguale dose si inietta il giorno 11 gennaio. A 15 gennaio, l'iniezione di 1 $^1/_2$ cm.^{3}, è seguita da fenomeni imponenti: subito dopo l'iniezione, l'animale presenta leggiere convulsioni, che durano circa un minuto, e poi si dileguano; subentrano oscillazioni pendolari, con ritmo lento, della testa, che è rivolta verso sinistra, ed un ni-

stagno bilaterale, ampio, orizzontale. Le oscillazioni pendolari della testa durano circa 2 ore; il nistagno, dopo 1 ora, scompare. L'animale rimane assai abbattuto, e si trova morto il mattino del 16 gennaio.

Coniglio N. 31 (di prot. *X* 8) peso gr. 2200. Nei giorni 5, 6, 7, 8, 9 giugno (1920) riceve, rispettivamente, 5, 5, 2 + 2, 2 + 2, 1 ½ + 1 ½ cm.³ di sostanza. L'animale è lasciato in riposo per molti mesi, ed il trattamento è ripreso il giorno 8 novembre con 2 cm.³, che sono tollerati senza alcun fenomeno evidente. Eguale dose si inietta il 9 novembre e il 15 novembre. Subito dopo questa seconda iniezione, l'animale muore con forte crisi di anafilassi.

Riassunto e conclusioni

Credo opportuno riassumere i risultati ottenuti, partitamente per ciascuna serie di esperimenti. Per l'albumina di uovo integra (preparato *A*):

1. — La tossicità primaria di questa sostanza, non è notevole. La prima iniezione, negli animali normali, fatta con 5 o 10 cm.³, fu sempre ben tollerata.

2. — Le successive iniezioni, fatte in quantità eguali alla prima, e con intervallo di 24 o di 48 ore l'una dall'altra, non producono neanche evidenti fenomeni tossici, se fatte, però, sino al 7. giorno, a partire dalla prima.

3. — Dal 7. giorno in poi, le iniezioni possono avere un effetto immediatamente letale; se sono fatte col metodo delle iniezioni subentranti, l'esito mortale è ritardato, da 1 a 9 giorni dopo l'ultima iniezione.

Per il preparato *B*:

1. — Questa sostanza si è dimostrata assai poco tossica, tanto alla prima iniezione, quanto nelle successive, ed ha permesso il trattamento degli animali per un lungo periodo di tempo.

2. — Anche dopo lungo trattamento, una quantità di poco superiore a quella abitualmente iniettata, ha però prodotto la morte degli animali.

Per il preparato *C*:

1. — Questa sostanza ha dimostrato una tossicità pri-

maria assai notevole, ed un trattamento prolungato fu possibile solo facendo le iniezioni con intervallo di una settimana.

Per il preparato *D* :

1. — Anche questa sostanza ha effetto tossico primario, per quanto meno della precedente.

Per il tuorlo d' uovo :

1. La tossicità primaria non è notevole, e l' animale tollera bene la 1ª iniezione di 4-5 cm^3.

2. Le successive iniezioni , che furono fatte, in generale, a dosi minori della prima e con intervallo di 1 o 2 giorni l'una dall'altra, furono egualmente bene sopportate fino al 10° giorno dall' inizio del trattamento.

3. Dal 10° al 15° giorno è il periodo in cui la sostanza, anche iniettata col metodo delle iniezioni subentranti, produce più spesso effetti immediatamente letali.

4. Tuttavia, col metodo delle iniezioni subentranti, è possibile trattare gli animali per un periodo piuttosto lungo, senza però poterli salvare dalla morte , se il trattamento continua.

*
* *

Dagli esperimenti soprariportati risulta , dunque , che assai scarsa è la tossicità primaria sia dell' albumina di uovo, sia del tuorlo d'uovo. Anche Vaughan ed altri fecero una consimile osservazione : la morte immediata, negli esperimenti di Vaughan, intervenne solo per iniezione di 32 a 40 cm^3. La prima iniezione fu sempre ben tollerata dagli animali, e non solo apparentemente, poichè da altre mie ricerche risulta che non intervengono modificazioni della pressione sanguigna, o della respirazione, o della temperatura del corpo. Neanche Arthus, negli esperimenti citati, con albumina di uovo integra, e Underhill, con albumina di uovo cristallizzata, hanno osservato modificazioni della pressione. Dei prodotti, invece, di scissione idrolitica con alcali dell' albumina di uovo, alcuni hanno dimostrato una notevole tossicità primaria (preparati *C* e *D*), altri, invece, erano meno tossici (preparato *B*), e ciò risulta conforme a quanto Schit-

tenhelm e suoi collaboratori hanno trovato studiando i rapporti tra tossicità primaria delle proteine e costituzione chimica di esse. Assai tossici sono le protamine ricche in diaminoacidi (salmina, sturina, ecc.), mentre i peptoni monoaminoacidi non esplicano quasi alcun effetto. Per ulteriore disintegrazione delle protamine, risultano protoni, di poca efficacia, e i mono e diaminoacidi che si possono ottenere da questi, sono completamente atossici. Per scissione degli aminoacidi si originano amine, tra le quali alcune sono assai tossiche, come la sepsina, la β imidazolyläthylamina ecc.

Le sostanze proteiche iniettate, sia atossiche, sia dotate di tossicità primaria, portarono a morte gli animali, in generale con sintomi classici di anafilassi acuta, immediatamente seguente all'iniezione. Non fu possibile tirare in lungo gli animali, provocare in essi uno stato antianafilattico, col metodo combinato di Rosenau-Anderson e di Besredka; solo qualche volta la morte, invece di avvenire subito dopo l'iniezione, seguì a distanza di qualche giorno. Nei conigli, con questi metodi, e per le sostanze da me adoperate nella quantità notata, tutto quel che si ottiene è un rinvio temporaneo della comparsa dello stato anafilattico, non una immunizzazione. Anche quando, procedendo col metodo delle iniezioni subentranti, la prima iniezione era ben tollerata, la seconda, fatta in quantità appena doppia della prima, ha portato la morte, se già era trascorso un adeguato intervallo di tempo dal giorno in cui il trattamento era cominciato. Inoltre, in alcuni di questi animali, p. es. N. 21, 24, 25, 26, 30, è avvenuto che, nel corso del trattamento, avessero a presentarsi fenomeni anafilattici, qualche volta anche imponenti, ma la respirazione artificiale arrivava a salvare l'animale; e tuttavia questi animali, alle iniezioni seguenti, non si dimostrarono più resistenti di prima, perchè morirono per la stessa quantità di sostanza. Neanche, quindi, l'aver superato una forte crisi anafilattica, ha indotto in essi uno stato di immunità, o di antianafilassi. Arthus non è giammai riuscito a realizzare uno stato antianafilattico nei conigli trattati con siero di cavallo; probabilmente questo stato è particolare alle cavie, nei quali ani-

mali Besredka ha compiuto i suoi esperimenti, ma Armit, anche nelle cavie, non è pervenuto alle stesse conclusioni di Besredka, sperimentando con bianco di uovo chimicamente puro.

Nonostante che sia mancato lo stabilirsi negli animali di uno stato antianafilattico, pure, per parecchi di essi, il trattamento è durato un tempo notevolmente lungo, per alcuni anche circa due mesi, cosichè si è potuto sicuramente osservare l' effetto del trattamento sullo stato generale dell'animale. Nei primi giorni, le sue condizioni si mantengono buone, ma a misura che il trattamento continua, l' animale perde la sua vivacità, comincia a dimagrire, le ossa si fanno sporgenti, il pelo cade a chiazze; in breve, si stabilisce uno stato di cachessia. In complesso, si avverano per un lungo trattamento con albumina o con tuorlo d'uovo gli stessi fenomeni da altri AA. constatati per intossicazione con proteine eterogenee diverse, e da me stesso osservati per il latte e per il peptone; fenomeni cachettici, di cui il meccanismo di produzione sarà considerato in altri lavori.

BIBLIOGRAFIA

Arthus — Arch. intern. de Physiologie Vol. VII e Vol. IX, 1909 e 1910.

Besredka e *Bronfenbrenner* — Ann. de l' Institut Pasteur, Vol. 25, 1911.

Weils — Journ. of. infect. diseas. Vol. 6, 1909.

Zunz — Bull. de l'acad. de med. de Belgique. Vol. V, 1911.

Schittenhelm, *Weichardt*, *Grisshammer* — Zeitschrift f. experim. Pathol. u. Therapie. Vol. X, 1912.

Vaughan — Protein split products etc. Philadelphia 1913.

Underhill — American Journal of Physiology. Vol. IX, 1903.

Rosenau e *Anderson* — Bull. Labor. Hyg. Washinton, 1906.

Armit — Zeitschr. f. Immunitätsforschung, 1910.